

和牛の若令去勢牛の肥育に対する Diethylstilbestrol および Testosterone 併用の効果 ならびに血中エストロゼンの量

和田 宏・湯原正高・片岡 章*
佐田 昭治*・猪掛 武*・小倉与四夫*

Effect of Diethylstilbestrol-Testosterone Combination on Fattening Steer of the Japanese Black Breed and Estrogen Level in the Blood Serum

Hiroshi WADA, Masataka YUHARA, Akira KATAOKA,
Shoji SADA, Takeshi INOKAKE, Yoshio OGURA

Effect of combination of diethylstilbestrol (DES) and testosterone on fattening cattle was studied using 6 steers of the Japanese Black breed. For the combination of hormones "Rapigain" was used, which is a implant containing 24 mg of DES and 120 mg of testosterone in one dose.

One dose of Rapigain was injected to 3 steers in the base of ear subcutaneously three times at 70-day interval, and the animals slaughtered on 70 days after the last injection. The rest 3 steers were served as control.

Live weight gains were higher in steers receiving Rapigain than in the control for entire 210-day of fattening period. Effect of one injection of the combination of hormones was remarkable in the first 20 days, and then gradually decreased. It seemed that the implant was effective during about 40 days after treatment. Adversal effect such as elevation of tail root and enlargement of teat was not observed.

Blood serum from the steer treated with Rapigain was assayed for estrogen using a method of vaginal cornification of ovariectomized mice with intravaginal injection of material. Estrogenic activity was not detected in the blood serum of the Rapigain treated steers at 52 or 70 days after the implantation of Rapigain.

牛の肥育促進剤として従来は主として天然または合成の発情物質が用いられている。発情物質として最も多く用いられているものは diethylstilbestrol (DES) および hexestrol である。

発情物質は細胞の有糸分裂促進による増数，下垂体からの成長ホルモンの分泌増加，下垂体を介しての甲状腺ホルモン分泌刺激による食欲の増進，また，副腎皮質からの蛋白同化ホルモンの分泌増加などをもたらす，これが肥育効果を生ずるものと考えられている。

一方，雄性ホルモンである testosterone は窒素蓄積作用があり筋肉の発達および肉量の増加に貢献すると共に estrogen に拮抗しその副作用を防ぐことも考えられる。

この研究は DES と testosterone の組合せの肥育効果を研究したものである。ホルモン肥

*広島県油木種畜場

育におけるホルモン処理の反覆が肥育効率に及ぼす影響ならびに血中の *estrogen* の量についても研究を行なった。

試験方法 および 材料

1. 試験区分および供試牛

無畜舎で飼育した黒毛和種去勢牛 6 頭を肥育後半期にルースバーンの休息牛舎に閉鎖追込みとし、そのうちの 3 頭を試験区、他の 3 頭を対照区とし、両区の牛を混合群飼とした。供試牛の概略は第 1 表の如くである。

第 1 表 供 試 牛

試験区分	牛番号	品 種	生年月日	Rapigain 注射時の日令		
				第 1 回注射	第 2 回注射	第 3 回注射
対 照 区	2	黒毛和種	43. 9. 16	382	452	522
	18	"	43. 6. 7	490	560	630
	21	"	43. 7. 15	445	515	585
試 験 区	1	"	43. 10. 8	360	430	500
	20	"	43. 6. 2	488	558	628
	23	"	43. 6. 23	467	537	607

2. 飼養管理

濃厚飼料として次の配合内容および栄養計算値のものをを用いた。

大麦 25%, とうもろこし 40%, 藁 15%, 米糠 12%, 大豆粕(抽出) 6%, 食塩 1%, 炭酸カルシウム 1%, DM 84.6, DCP 10.4, TDN 72.6

濃厚飼料には細切稲わらを 10% 混合して不断給与とした。また、粗飼料としては牧生草、牧草サイレージ、乾草、稲わらなどを不断給与した。食塩としては鉋塩を与え、水は自由に摂らせた。

3. ホルモン処理

ホルモンとしては DES と testosterone の合剤である Rapigain を用いた。これは 1 ドーズ中に testosterone を 120 mg, DES を 24 mg 含有するものである。これを 70 日間隔で 3 回、1 回に 1 ドーズを耳根部皮下に注入し、最後の注入後 70 日目にと殺した。

と殺時に血液を採り、血漿中の *estrogen* 濃度を測定した。

また、農家が肥育中の別の和牛 3 頭に Rapigain を注射し 52 日後のと殺時に採血し、Rapigain 処理をしない他の 1 頭からも血液を採り、それぞれ血漿の *estrogen* 力価を測定した。

4. Estrogen 力価の測定

供試血液には採血時に 蔭酸を加え、これを遠心分離して血漿を得た。この血漿について *estrogen* の検定を行なった。

血液(血漿)中の遊離 *estrogen* の抽出には藤井ら¹⁾、成田²⁾、SULMUN³⁾ および PREEDY ら⁴⁾の方法があるが筆者らはこれらの方法を検討した結果、Preedy らの方法が *estrogen* 回収率が最も高く、抽出物の量が最も少なかったので、この方法によって血漿中の遊離 *estrogen* の抽出を行なった。

estrogen 力価は生物検定法のうち最も感度が高い腔内注入法によった。血漿の *estrogen* 抽

出物をポリプロピレングリコールに溶かし、これをマイクロメーター付注射器で卵巣マウスの腔内に1日2回（1回注射量0.005ml）を2日間注入し、24, 36, 48, 72時間後にスミア像を鏡した。

検定に当っては1検定にマウス5匹を用い、1匹当たり血漿20ml相当の抽出物を腔内に注入した。検定の結果は estrogen 力価を DES 相当量で示した。

試 験 成 績

1. 肥育成績

試験期間中の体重は10日毎に測定したが、20日毎にまとめた。増体量、増体率、1日平均増体量などは第2表に示した如くである。

第2表 Rapigain 注射後の体重 (kg)

区 分	牛 番 号	第1回注射後の日数				第2回注射後の日数				第3回注射後の日数			
		0	20	42	60	0	20	40	60	0	20	40	60
対照区	2	322.0	336.5	359.5	369.0	384.0	392.0	407.0	429.0	443.0	438.0	447.0	455.5
	18	392.0	404.0	428.0	435.0	446.0	459.0	465.0	492.0	506.0	499.0	522.0	536.0
	21	397.0	423.0	434.0	438.0	446.0	450.0	469.0	500.0	505.0	505.0	524.0	536.0
	平 均	370.3	387.8	407.2	414.0	425.3	433.7	447.0	473.7	484.7	480.7	497.7	509.0
	増 体 率 %	100	104.7	109.9	111.8	100	101.9	105.1	111.3	100	99.1	102.6	105.0
	日平均増体量		0.87	0.86	0.45		0.44	0.66	1.33		-0.2	0.68	0.57
試験区	1	320.0	350.0	378.0	397.5	398.5	421.0	425.0	445.0	458.0	466.0	495.0	507.0
	20	380.0	407.0	424.5	440.0	447.0	465.0	482.0	510.0	522.0	524.0	531.0	543.0
	23	390.0	423.0	446.0	454.5	464.0	482.0	514.0	526.0	537.0	547.5	566.5	576.5
	平 均	363.3	393.3	416.2	430.7	436.5	456.0	473.3	493.7	505.8	512.5	530.8	542.2
	増 体 率 %	100	108.2	114.5	118.5	100	104.4	108.4	113.1	100	101.3	104.7	107.1
	日平均増体量		1.50	1.07	0.80		0.97	0.91	1.00		0.33	0.91	0.56

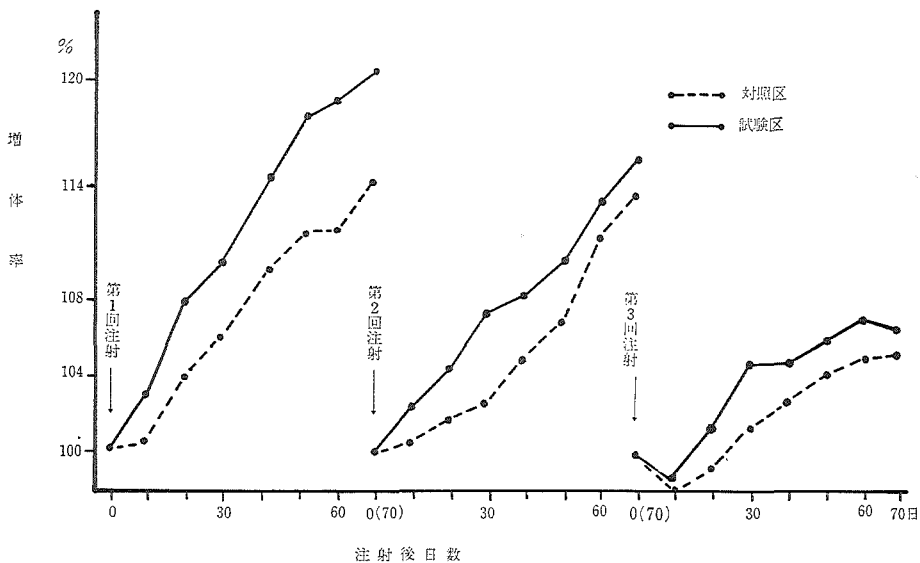
Rapigain 注射後、20日、40日、60日における1日平均増体量を比較すれば、試験区は対照区に対し第1回注射においては172, 124, 177%, 第2回注射においては220, 137, 75%, 第3回目においては40日目134%, 60日目約100%である。

この成績からみると Rapigain の有効期間は2カ月間以内である。10日毎に測定した体重の変化からみると注射後40日～50日の10日間における1日平均増体量ではむしろ対照区の方が優れている。従って Rapigain の有効期間は40日間程度と考えられる。

また、1日平均増体量からみると Rapigain の効果は注射後10日間で明らかになり、注射後20日間には最高となり、その後は次第に効力が減退するものようである。

以上の如く和牛の肥育における Rapigain の増体効果が明らかに示された。そして対照区および試験区の体重は試験開始時にはそれぞれ470.3kgおよび363.3kgであったが、試験終了時にはそれぞれ510.0kgおよび538.8kgとなり試験区が優れていた。しかし、この体重の優劣逆転は早くも第1回の Rapigain 注射時10日目までに起っている。

Rapigain の第1回、第2回、第3回の注射による増体率の変化を図示すれば第1図の如くである。牛の肥育度が進むにつれて増体が鈍ることは周知の事実であるが、第1図に示された結果からみると注射回数が増すに従い Rapigain の効果が低下すると思われる。



第1図 Rapigain 1 ドーズの注射による増体率

肥育終了時に乳頭の肥大，尾根部の挙上，関節異常など estrogen の副作用の影響とみられるような異常はみられなかった。

また、枝肉の格付けを行なった。その結果を第3表に示した。と体の外観，肉の色，ロース芯の脂肪交雑，肉のしまり，脂肪の質，色など肉質に関し対照区と試験区の間に差はみられなかった。

2. 血漿中のエストロゼンの検定

(1) 標準 Estrogen の検定

生物検定の場合，標準 estrogen としては一般に Estrone が用いられるが，本研究では肥育剤として DES を用いているので標準として DES を用い生物検定を行なった。

DESを少量のポリプロピレン・グリコールに溶かし，0.0001 μg ，0.0002 μg ，0.0003 μg ，0.0005 μg および 0.001 μg の5つのドーズについて検定を行なった。1回の検定にマウス5匹を用い，1ドーズにつき検定を3回反覆して，その反応動物数の平均を求めた。この方法では発情期のスメア像（角化細胞）を示すマウス数が60%以上の場合に陽性反応とみなされる。

この検定で DES 0.0002 ～ 0.0003 μg が最低検出量であったが，最小有効量は 0.0003 μg と考えられる。

Estrone を標準として用いた場合の最低検出量は 0.0001 μg であり，0.0002 μg では7回ま

第3表 枝肉の格付

区 分		対 照 区			試 験 区		
牛 番 号		2	18	21	1	20	23
と 体 外 観	均 称	上	上	上	上	上	上
	肉 付	上	上	上	上	上	上
	脂肪附着	上	上	上	上	上	上
	仕 上	極上	極上	極上	極上	極上	極上
肉 質	脂肪交雑	3.5	3.5	3.0	2.5	4	2.5
	肉 色	上	上	上	上	上	上
	肉のきめ しまり	極上	極上	極上	極上	極上	極上
	脂 肪 色	上	上	上	上	上	上
	脂肪の質	上	上	上	上	上	上
	枝肉規格	上	上	上	上	上	上

でマウスを反覆使用しても、なお 60% 以上の陽性反応を示すといわれている⁵⁾。

長沢ら⁶⁾は estrogen の最小有効量を $0.0003 \mu g$ としているが本研究の成績もこれと一致する。

(2) 血漿中の Estrogen 濃度

Repigain 注射牛の血漿中の estrogen 濃度を検定した結果を第4表に示した。

第4表 Repigain 注射牛の血漿中 Estrogen 濃度

区 分	牛番号	Repigain 注射 後採血までの 日数	マウス1匹 当り注入量 (血漿相当量)	使 用 マウス 数	陽 性 反 応 数	反 応 %	血漿中 Estrogen 力価 DES 相当量 $\mu g/l$
対 照 区	S-1		20 ml	5	1	20	0.015 $\mu g/l$ 以下
	2	(70)	20	5	0	0	"
	18	(70)	20	5	1	20	"
	12	(70)	20	5	0	0	"
Repigain 注 射 区	N-1	52	20	5	0	0	"
	N-2	52	20	5	1	20	"
	N-3	52	20	5	1	0	"
	1	70	20	5	0	0	"
	20	70	20	5	0	0	"
	23	70	20	5	0	0	"

注：S-1, N-1～N-3は参考牛

Repigain 注射後 70日の血漿にも、52日の血漿にも発情活性は認められなかった。この研究に用いた estrogen 検定の感度から考えて供試牛の血漿の発情活性は $0.015 \mu g/l$ 以下であり、肥育に用いた estrogen がたとえ残留したとしても極く微量であり、発情牛の血漿中の卵胞ホルモンの量⁷⁾⁸⁾と大差の無い量である。

これはホルモン肥育を行なった牛の肉や血液中のエストロゼン力価に関し土屋ら⁹⁾、和田ら¹⁰⁾および上坂ら¹¹⁾が報告した結果とほぼ一致している。

摘 要

和牛の肥育に対する diethylstilbestrol (DES) と testosterone の組合せの結果を研究した。このホルモンの組合せとして Repigain を用いた。Repigain は1ドーズ中に DES 24 mg および testosterone 120 mg を含むところの肥育剤である。

3頭の牛に Repigain 1ドーズずつを70日間隔で3回耳根部皮下に注入し、最後の注入後70日でと殺した。別の3頭を対照区とした。

Repigain を注射した区の牛の増体は210日にわたる肥育期間中、対照区の牛のそれよりも優れていた。

1回の注射の効果は初めの20日間が最大で、その後は漸減し、40日過ぎまで続いた。

尾根部の挙上や乳頭の肥大などの副作用は起らなかった。

卵巣マウスの腔内注入による腔垢反応により Repigain 処理 50～70日後の牛の血清中の estrogen の検定を行なったが estrogen の残留は検知されなかった。

謝 辞

本研究を行なうに当り日本スクイブ社の及川智任、柏野実、伊藤牧広、田村剛捷各氏の御支援を得た。
ここに記して深謝の意を表する。

文 献

- 1) 藤井久四郎, 藤山 融, 星野一正: 臨床婦誌, 9, 643, 1955
- 2) 成田 太: 日産婦誌, 6, 13, 1954
- 3) SULMUN, F. G.: Endocrinology, 50, 61, 1952
- 4) PREEDY, J. R. K. and AITKEN, E. H.: J. Biol. Chem., 236, 1300, 1961
- 5) 佐藤匡美, 清水寛一, 竹内三郎: 家畜繁殖誌, 7, 157, 1962
- 6) 長沢 弘, 正田陽一, 内藤元男: 家畜繁殖誌, 4, 79, 1958
- 7) 小笠 晃, 山内 亮: 日畜会報, 27, 別号, 32, 1956
- 8) HENRICKS, D. M., J. F. DICKEY and J. R. HILL: Endocrinol., 89, 1350, 1971
- 9) 土屋平四郎, 野附 巖, 石原盛衛: 中国農試報告, 3, 400, 1957
- 10) 和田 宏, 湯原正高, 林 正夫, 梶並嘉芳: 日本畜産学会報, 35, 88, 1964
- 11) 上坂章次, 川島良治, 並河 澄, 若松 繁, 塩尻泰一, 岬 紀男, 松山隆次, 和田 宏, 湯原正高: 京都大学農学部家畜育種学・飼育学研究室報告, 262号, 1~31, 1969